

日本栄養・食糧学会誌 Vol. 43 No. 6 427~435 1990

経産ラットのカルシウム, リンおよびマグネシウム 出納に及ぼす飼料中カゼインまたは 分離大豆タンパク質レベルの影響

阿左美 章治*, 平塚 静子*
北野 隆雄**, 江指 隆年***

* 聖徳栄養短期大学

** 熊本大学医学部公衆衛生学教室

*** 国立健康・栄養研究所老人健康・栄養部

Effects of Dietary Casein and Soy Protein Isolate on Calcium, Phosphorus and Magnesium Balance in Multiparous Rats

Shoji AZAMI,* Shizuko HIRATSUKA,* Takao KITANO**
and Takatosi ESASHI***

* Seitoku Junior College of Nutrition, Katsusika-ku, Tokyo 124

** Department of Public Health, Kumamoto University Medical School, Kumamoto 860

*** Division of Geriatric Health Science, National Institute of Health and
Nutrition, Shinjuku-ku, Tokyo 162

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 43, 427~435 (1990)

An experiment was carried out to determine the effect of dietary protein quality and quantity on urinary calcium (Ca), phosphorus (P) and magnesium (Mg) excretion in 5-month-old multiparous rats. As protein sources casein and/or soy protein isolate were used, to give protein contents in the diet of 20% and 40%, respectively. Female Fischer-strain rats aged 5 months were divided into groups given a 20% casein diet (C20), a 40% casein diet (C40), a 20% soy protein isolate diet (S20) or a 40% soy protein isolate diet (S40) for 16 weeks. At 6, 11 and 16 weeks, studies of Ca, P and Mg balance were done. After the balance studies at 16 weeks, the rats were killed and the Ca, P and Mg contents of the serum, kidney and right femur were determined. Parathyroid hormone (PTH) levels in sera were also measured. The results were as follows: 1) The 40% casein diet group always exhibited higher urinary Ca and P excretion than the other groups, but did not show a negative Ca and P balance. Urinary Ca excretion in the C40 group did not decrease with aging and maintained the highest value. 2) Calcium retention in the C40 group was lower than in the S40 group, indicating a negative effect of C40 on Ca metabolism. 3) Urinary Mg excretion and Mg retention showed no significant differences among the four groups. 4) The weights of raw femur and fat-free femur, the ash, Ca, P and Mg contents of the femur, and the Ca/P ratio per gram of femur showed no significant differences among the four groups. 5) Kidney weight in the 40% protein diet group was significantly higher than in the 20% protein diet group. The calcium content per gram of kidney in the C40 group was significantly lower than in the other groups. 6) Serum PTH content in the 40% protein diet group was higher than in the 20% protein diet group. These results indicate that excess dietary protein may have an adverse effect on Ca metabolism.

Key Words calcium, phosphorus, magnesium, casein, soy protein isolate.

(Received October 13, 1989)

* 〒124 東京都葛飾区西新小岩 1-4-6

** 〒860 熊本市本庄 2-2-1

*** 〒162 東京都新宿区戸山 1-23-1

Table 1. Composition of experimental diets.

(g/100 g)

Ingredients	Diets*1			
	C 20	C 40	S 20	S 40
Casein	20.0	40.0	0.0	0.0
S.P.I.*2	0.0	0.0	20.0	40.0
α -corn starch	65.0	45.0	65.0	45.0
Soy bean oil	5.0	5.0	5.0	5.0
Cellulose powder	5.0	5.0	5.0	5.0
Mineral mixture*3	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture*4	1.0	1.0	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Total	100.0	100.0	100.0	100.0
Analysis value of mineral in each diets (mg/100 g diet)				
Calcium*5	430	439	438	449
Phosphorus*6	445	586	475	627
Magnesium*5	59.5	63.3	76.8	93.2

*1 C20, 20% Casein diet; C40, 40% Casein diet; S20, 20% S.P.I. diet; S40, 40% S.P.I. diet. *2 Soy protein isolate (Fujipro R). *3 AIN-76 Mineral mixture (*J. Nutr.*, 107, 1340 (1977)). *4 AIN-76 Vitamin mixture (*J. Nutr.*, 107, 1340 (1977)). *5 By air-acetylen flame atomic absorption spectrophotometry. *6 By Gomori method (*J. Lab. Clin. Med.*, 27, 955 (1942)).

高タンパク質摂取が尿中のカルシウム（以下 Ca と略す）排泄量を増加させることについてはヒト¹⁾や雄ラット²⁾を用いた実験によって明らかとなっている。Ca の出納については、タンパク質摂取量のみでなく、その質的違い、食事または飼料組成の差、被験者あるいは実験動物の性、年齢および生体の状態や実験期間の違いなどから一定の結果が得られていない。すなわち、ヒトを対象とした Johnson⁴⁾ や Shuette⁵⁾ らは高タンパク質摂取によって Ca 出納は負を示すと報告し、Spencer⁶⁾ は Ca 出納は正を示したとしている。一方、雄ラットを用いた Bell²⁾ や Whiting³⁾ らの実験でも高タンパク質摂取は Ca 出納を負にするとしながらも、⁴⁵Ca を深部標識した場合、骨からの ⁴⁵Ca の動員は認められなかったとしている。

著者⁷⁾ らも発育期の雌ラットにカゼインまたは分離大豆タンパク質を与え、その摂取量および質的違いが Ca 出納に及ぼす影響について実験を行った結果、Ca の尿中排泄量は摂取タンパク質量の増加および加齢に伴って増加し、カゼイン食投与でその傾向が著しいが Ca 出納は負を示さなかったことを報告した。

一方、Marsh⁸⁾ らの疫学調査では高タンパク質食の摂取は骨密度の減少や骨老化年齢を早めるとしている。

このように一見矛盾する実験結果は、高タンパク質食

摂取と Ca の体内利用についてさらに検討すべき多くの課題が残されていることを示している。

そこで本研究においては妊娠、出産、授乳を繰り返し経験した成熟ラットを対象として高タンパク質食摂取が Ca 代謝に及ぼす影響について知るための実験を行った。

実験方法

1. 実験動物

実験動物として生後5カ月齢、体重 210~230 g の妊娠出産を繰り返し経験したフィッシャー系雌ラット 24 匹を日本チャールスリバー社（株）より購入し、AIN-76 精製飼料を一部改変した 20% カゼイン食（Table 1, C20）にて1週間予備飼育した後、各群の体重がほぼ等しくなるように1群6匹ずつの4群に分け、16週間の実験を行った。

2. 実験飼料

実験に用いた飼料を Table 1 に示した。飼料はタンパク質源をミルクカゼイン（オリエンタル酵母（株））および分離大豆タンパク質（不二精油（株））の2種類とし、その含有量をそれぞれ 20% および 40% とした。すなわち 20% カゼイン食（C20 と略、以下同じ）、40% カゼイン食（C40）、20% 分離大豆タンパク質食（S20）および 40% 分離大豆タンパク質食（S40）の4種類とし

Table 2. Body weight and total food intake.

(g; Mean \pm SE; $n=6$)

	Body weight*			Total food intake
	6 weeks	11 weeks	16 weeks	
C 20	235.2 \pm 4.6	239.0 \pm 5.2	244.3 \pm 3.0	1061.8 \pm 9.8
C 40	233.2 \pm 2.8	239.2 \pm 2.9	242.8 \pm 2.4	1049.8 \pm 15.4
S 20	243.3 \pm 4.5	248.5 \pm 3.8	246.7 \pm 4.7	1098.3 \pm 14.3
S 40	238.3 \pm 6.9	244.0 \pm 6.7	250.2 \pm 5.5	1071.5 \pm 24.6

* Body weight was measured at the end of each experimental periods of the balance study.

た。なお各飼料中の Ca, リン (以下 P と略す) およびマグネシウム (以下 Mg と略す) 含有量の実測値を合わせて示した。

3. 飼育条件

ラットは6連の個飼いステンレス網製のカゴを使用し1日12時間明暗 (午前7時～午後7時明期), 飼育温度 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 湿度 $50 \pm 5\%$ の動物室で飼育した。午前10時～12時の間に給餌, 給水 (脱イオン水), 飼料摂取量および体重測定等の作業を行った。

4. 出納実験

出納実験は実験飼料給与開始 6, 11, および 16 週目にそれぞれ5日間実施した。出納実験期には代謝ケージを使用し飼料はカルミンをマーカーに用い糞尿を分離採取した。糞尿は毎日採取し, 糞については乾燥機を用い恒量になるまで乾燥したのち重量を測定し, ついで粉末とした。尿は 5N 塩酸 10 ml をあらかじめ添加したビーカーに採取し, 一定容としたのちそれぞれサンプルとした。

5. 分析試料の調製と試料の分析方法

分析に供する飼料, 糞および尿の処理および分析は前報⁷⁾の方法に準じて行った。また血清副甲状腺ホルモン (PTH) の測定⁸⁾は, PTH 測定用キット (二抗体法, 栄研化学 PTH-C) を用いて行った。

6. 統計処理

結果は, 比較すべき数値の等分散性を検定後, t 検定によって有意差を判定した。等分散性を示さなかったものについては, ウェルチの t 検定によって有意差を判定した¹⁰⁾。危険率は 5% とした。

結 果

1. 飼料摂取量および体重増加量

飼育期間中の飼料総摂取量および体重変化を Table 2 に示した。各群の採食量および体重増加量に差は認められなかった。

2. カルシウム出納

Ca の出納結果を Table 3 に示した。Ca の摂取量は

飼育開始 6, 11, 16, 週目の出納実験期間とも4群間に差は認められなかった。また各出納期間の間にも Ca の摂取量に差はみられなかった。摂取量から糞中排泄量を差し引いた見かけの Ca 吸収量および吸収率とも加齢に伴い低下が認められ, 11, 16, 週目では6週目に対して有意に低値を示した。

一方, Ca の尿中排泄率を各群ごとに, 各出納期間別にみると尿中 Ca 排泄量の著しい増加を認めず横ばいの状態にある傾向であった。また各群ごとの Ca 尿中排泄率をそれぞれの出納期間についてみると, C40 の尿中排泄率がいずれの出納期間においても 9.9, 8.7, 8.5% と, 他の3群が示す 3.9~5.8% に対してつねに有意に高値を示した。しかも C40 の尿中排泄量は加齢にかかわらず高値のまま持続することが特徴的であった。

一方, S40 の Ca の尿中排泄率についてみると出納期間を通じておよそ $4.7 \pm 0.4\%$ であり S20 の $4.3 \pm 0.2\%$ より高排泄を示すものの C20 の $4.9 \pm 0.6\%$ より低値を示す結果であった。

Ca の体内保留率は加齢によって4群とも低下する傾向にあった。また, 飼育 11, 16 週目にかけてその低下は鈍る傾向にあった。

体内保留率を摂取タンパク質の量および質の違いからみると S20 が低値を示すこと以外, 他の3群間に有意差は認められなかった。

3. リン出納

P の出納結果を Table 4 に示した。P の摂取量は飼料タンパク質に含まれる P 量により各出納期間とも 20% タンパク質群に対して 40% タンパク質群が高値を示した。また各群の各出納期間ごとの P 摂取量の間には有意差は認められなかった。

P の吸収率については 40% タンパク質食群が高値を示し, なかでも C40 が各出納期間とも他の3群に対して有意に高い値であった。一方, 加齢による P の吸収率は, 飼育 11 週目までは低下するものの, 16 週目からは加齢によって低下する傾向にはなかった。

P の尿中排泄率についてみると C40 が各出納期間と

Table 3. Calcium balance of rats fed the diets containing casein or soy protein isolate at the concentration of 20% or 40%.

(Mean±SE; n=6)

Period (weeks)	Group	Intake (mg/day)	Absorption (%)	Urinary excretion (%)	Retention (%)
6	C 20	54.4±3.4	44.0±6.9 ^a	5.8±0.4	38.3±7.1
			(23.4±3.1)*	(3.2±0.4)	(20.2±3.3)
	C 40	55.4±1.7	35.4±4.8 ^a	9.9±0.6 ^c	25.5±4.9
			(19.3±2.1)	(5.5±0.4)	(13.8±0.3)
	S 20	62.7±2.8	27.8±2.8 ^a	5.0±0.1	22.8±2.7
			(17.3±1.8)	(3.2±0.2)	(14.2±1.6)
	S 40	59.6±7.1	37.6±1.3 ^a	5.1±0.3	32.6±1.2 ^b
			(22.2±2.3)	(3.1±0.4)	(31.2±2.1)
11	C 20	56.3±3.9	20.9±3.8	5.1±0.8	15.8±4.3
			(12.1±2.6)	(2.8±0.5)	(9.3±2.7)
	C 40	55.8±2.3	19.3±1.1	8.7±1.1 ^c	10.6±1.6
			(10.8±0.9)	(4.9±0.7)	(5.9±0.9)
	S 20	60.0±1.8	17.2±1.8	3.9±0.2	13.3±1.7
			(10.4±1.3)	(2.4±0.1)	(8.1±1.3)
	S 40	57.8±3.0	22.5±2.5	4.4±0.7	18.2±2.9
			(13.0±1.4)	(2.6±0.5)	(10.4±1.4)
16	C 20	54.2±4.4	16.8±1.1	3.9±0.6	13.0±1.5
			(8.9±0.3)	(2.1±0.4)	(6.8±0.4)
	C 40	58.5±2.2	20.2±1.2 ^b	8.5±1.0 ^c	11.7±0.7
			(11.7±0.5)	(4.9±0.5)	(6.8±0.4)
	S 20	61.2±5.0	11.8±2.8	4.0±0.2	7.8±2.8
			(7.2±1.6)	(2.4±0.3)	(4.8±1.5)
	S 40	62.8±2.7	20.2±2.2 ^b	4.5±0.3	15.9±2.2 ^b
			(12.7±1.3)	(2.8±0.3)	(9.9±1.2)

* (), Average value of the absolute quantity (mg/day). ^a Significantly different from the corresponding the other experimental periods ($p<0.05$). ^b Significantly different from the corresponding S20 ($p<0.05$). ^c Significantly different from the corresponding the other groups ($p<0.05$).

も他の3群に対して有意に高値を示す結果であった。また、各群ともPの尿中排泄率は加齢とともに低下する傾向を示し、なかでもC40の飼育16週目の尿中排泄率が6週目の尿中排泄率に対して有意に低値を示した。

4. マグネシウム出納

Mg出納の結果をTable 5に示した。Mg摂取量についてみると出納実験を実施した全期間を通して、カゼイン食群および分離大豆タンパク質食群とも20%タンパク質群に対して40%タンパク質群が高い摂取量であり、さらにS20はC40よりも高い摂取量であった。吸収率についてはMg摂取量の低いC20、C40がS20、S40に対して高率を示し、C40が全出納期間ともつねに最高値であった。各群の出納期間ごとの尿中排泄には大

きな変化は認められずほぼ一定の値であった。体内保留率については16週目には各群とも同程度の体内保留率であった。

5. 血清、大腿骨および腎臓中のCa, P, Mg量

血清、大腿骨および腎臓中のCa, P, Mg量をTable 6, 7, 8に示した。尿中Ca排泄量が最高値を示したC40についてみると大腿骨の湿重量、脱脂骨重量および骨中灰分量とも他の群との間に差は認められず、また体重100g当りに換算した脱脂大腿骨重量についても差は認められなかった。さらにC40の大腿骨のCa量はCa総量、脱脂大腿骨1g当りのCa量とも他の3群との間に差は認められなかった。

腎臓重量についてみるとC40は 886 ± 18 mg; S40は

Table 4. Phosphorus balance of rats fed the diets containing casein or soy protein isolate at the concentration of 20% or 40%.

(Mean \pm SE; $n=6$)

Period (weeks)	Group	Intake (mg/day)	Absorption (%)	Urinary excretion (%)	Retention (%)
6	C 20	56.3 \pm 3.5 ^a	58.2 \pm 2.2	37.9 \pm 5.0	20.3 \pm 4.4
			(32.5 \pm 1.0)*	(24.3 \pm 2.2)	(8.1 \pm 1.7)
	C 40	74.9 \pm 2.3	70.9 \pm 1.2 ^a	61.4 \pm 0.6 ^{ac}	9.5 \pm 1.4 ^d
			(53.0 \pm 1.0)	(46.0 \pm 1.7)	(7.0 \pm 0.9)
	S 20	68.1 \pm 3.0	50.1 \pm 2.3	37.9 \pm 0.4	12.3 \pm 2.3
			(34.0 \pm 1.9)	(25.8 \pm 1.2)	(8.2 \pm 1.4)
	S 40	79.4 \pm 8.9	62.4 \pm 1.4	48.2 \pm 0.6 ^c	14.2 \pm 1.5
			(49.1 \pm 4.7)	(38.1 \pm 4.1)	(10.9 \pm 1.2)
11	C 20	58.3 \pm 4.0 ^b	53.5 \pm 1.9	41.1 \pm 2.8	12.4 \pm 4.1
			(31.4 \pm 2.9)	(24.0 \pm 2.1)	(7.6 \pm 2.7)
	C 40	73.3 \pm 3.3	65.5 \pm 1.6 ^a	57.8 \pm 2.3 ^a	7.6 \pm 1.9
			(48.1 \pm 2.8)	(42.7 \pm 3.5)	(5.4 \pm 1.2)
	S 20	65.1 \pm 1.9 ^b	43.8 \pm 1.4	36.7 \pm 0.2	7.2 \pm 1.4
			(28.6 \pm 1.7)	(23.9 \pm 0.7)	(4.8 \pm 1.1)
	S 40	82.0 \pm 4.6	54.5 \pm 1.4	45.1 \pm 2.0	9.3 \pm 2.9
			(44.5 \pm 2.0)	(37.0 \pm 3.0)	(7.3 \pm 2.0)
16	C 20	57.4 \pm 3.9 ^b	52.0 \pm 1.2	39.0 \pm 2.4	13.3 \pm 3.5
			(29.6 \pm 1.7)	(22.3 \pm 2.0)	(7.4 \pm 1.9)
	C 40	78.4 \pm 2.5	66.7 \pm 0.8 ^a	54.9 \pm 2.7 ^a	11.8 \pm 2.9 ^e
			(52.2 \pm 1.4)	(43.1 \pm 2.5)	(9.1 \pm 2.1)
	S 20	66.5 \pm 5.4	47.8 \pm 1.1	36.2 \pm 1.2	11.6 \pm 1.5
			(34.6 \pm 2.9)	(23.8 \pm 1.5)	(8.0 \pm 1.4)
	S 40	87.8 \pm 3.8	56.3 \pm 1.1	43.0 \pm 0.8	13.4 \pm 1.4
			(49.3 \pm 2.6)	(37.7 \pm 1.9)	(11.5 \pm 1.0)

* (), Average value of the absolute quantity (mg/day). ^a Significantly different from the corresponding the other groups ($p<0.05$). ^b Significantly different from the corresponding C40 and S40 ($p<0.05$). ^c Significantly different from the corresponding 16-weeks ($p<0.05$). ^d Significantly different from the corresponding C20 ($p<0.05$). ^e Significantly different from the corresponding S40 ($p<0.05$).

884 \pm 27 mg であり, C20 の 730 \pm 13 mg, S20 の 762 \pm 29 mg に対して有意に重かった。腎臓の Ca 量については総量および腎臓 1g 当りの量とも C40 が S40 に対して有意に高値を示した以外, 群間に差はみられなかった。

一方, 血清の P, Mg 濃度はそれぞれ C20 が高値を示したもののその値は他の 3 群とともに正常量の範囲内であった。また大腿骨の P, Mg 量は総量および脱脂骨 1g 当りの含有量ともに 4 群間に差を認めなかった。

腎臓中の P 量については総量で 40% タンパク質食群

が 20% タンパク質食群に対して有意に高値を示したが腎臓 1g 当りの P 量は C40 が他の 3 群に対して有意に低値を示した。Mg 総量ではカゼイン, 分離大豆タンパク質食群とも 40% タンパク質食群が 20% タンパク質食群に対して高値を示した。また Ca, P および Mg の尿中排泄量がつねに最高値を示した C40 の大腿骨, 腎臓中 P, Mg 量を測定した結果, 大腿骨については他の群との間に差は認められず腎臓 1g 当り P, Mg 含有量においては Ca と同様に C40 が最低値であった。

6. 血清中の副甲状腺ホルモン量

尿中 Ca 量と血清中の副甲状腺ホルモン (PTH) の量

Table 5. Magnesium balance of rats fed the diets containing casein or soy protein isolate at the concentration of 20% or 40%.

(Mean±SE; n=6)

Period (weeks)	Group	Intake (mg/day)	Absorption (%)	Urinary excretion (%)	Retention (%)
6	C 20	7.5±0.5	67.4±4.5 (5.0±0.3)*	33.7±1.3 (2.5±0.2)	33.7±5.1 (2.5±0.3)
	C 40	7.9±0.2	73.5±3.2 ^b (5.8±0.4)	40.7±1.5 ^b (3.2±0.2)	32.8±3.6 (2.6±0.3)
	S 20	11.0±0.5 ^a	55.3±1.9 (6.1±0.3)	30.6±0.6 (3.4±0.2)	24.7±1.8 (2.7±0.2)
	S 40	11.8±1.3 ^a	60.5±2.2 (7.0±0.6)	29.8±0.9 (3.5±0.4)	30.6±2.2 (3.5±0.3)
	C 20	7.7±0.5	56.6±1.3 (4.4±0.4)	31.6±2.1 (2.4±0.2)	25.1±3.1 (1.9±0.3)
	C 40	7.9±0.4	65.8±2.4 ^b (5.1±0.1)	34.3±3.1 (2.7±0.3)	31.5±4.9 (2.3±0.3)
	S 20	10.6±0.3 ^a	49.3±0.9 (5.2±0.2)	29.3±1.1 (3.1±0.1)	20.0±1.6 (2.1±0.2)
	S 40	12.1±0.7 ^a	50.4±1.9 (6.1±0.3)	29.6±1.6 (3.6±0.2)	20.7±2.4 (2.5±0.3)
11	C 20	7.6±0.5	62.8±0.9 (4.8±0.3)	31.6±1.4 ^c (2.4±0.2)	31.2±2.0 (2.4±0.2)
	C 40	8.4±0.3	70.9±0.9 ^b (6.0±0.1)	34.1±3.0 ^c (2.9±0.2)	36.8±2.7 (3.1±0.3)
	S 20	10.8±0.9 ^a	61.4±2.9 (6.5±0.4)	26.9±2.9 (2.8±0.1)	34.5±2.0 ^d (3.8±0.4)
	S 40	13.0±0.6 ^a	56.1±1.1 (7.3±0.2)	25.4±1.6 (3.3±0.2)	30.7±2.0 ^d (4.0±0.3)
16	C 20	7.6±0.5	62.8±0.9 (4.8±0.3)	31.6±1.4 ^c (2.4±0.2)	31.2±2.0 (2.4±0.2)
	C 40	8.4±0.3	70.9±0.9 ^b (6.0±0.1)	34.1±3.0 ^c (2.9±0.2)	36.8±2.7 (3.1±0.3)
	S 20	10.8±0.9 ^a	61.4±2.9 (6.5±0.4)	26.9±2.9 (2.8±0.1)	34.5±2.0 ^d (3.8±0.4)
	S 40	13.0±0.6 ^a	56.1±1.1 (7.3±0.2)	25.4±1.6 (3.3±0.2)	30.7±2.0 ^d (4.0±0.3)
	C 20	7.6±0.5	62.8±0.9 (4.8±0.3)	31.6±1.4 ^c (2.4±0.2)	31.2±2.0 (2.4±0.2)
	C 40	8.4±0.3	70.9±0.9 ^b (6.0±0.1)	34.1±3.0 ^c (2.9±0.2)	36.8±2.7 (3.1±0.3)
	S 20	10.8±0.9 ^a	61.4±2.9 (6.5±0.4)	26.9±2.9 (2.8±0.1)	34.5±2.0 ^d (3.8±0.4)
	S 40	13.0±0.6 ^a	56.1±1.1 (7.3±0.2)	25.4±1.6 (3.3±0.2)	30.7±2.0 ^d (4.0±0.3)

* (), Average value of the absolute quantity (mg/day). ^a Significantly different from the corresponding C20 and C40 ($p<0.05$). ^b Significantly different from the corresponding the other groups ($p<0.05$). ^c Significantly different from the corresponding S40 ($p<0.05$). ^d Significantly different from the corresponding 11th weeks ($p<0.05$).

Table 6. Effect of dietary casein and soy protein isolate on serum calcium, phosphorus, magnesium and PTH concentration.

(Mean±SE; n=6)

		C 20	C 40	S 20	S 40
Ca	(mg/dl)	9.03±0.28	8.26±0.29	9.24±0.40	9.46±0.61
P	(mg/dl)	4.24±0.10 ^a	3.62±0.12	3.73±0.12	3.79±0.12
Mg	(mg/dl)	1.75±0.04	1.68±0.01 ^b	1.72±0.02	1.70±0.01
PTH	(ngEq/ml)	2.49±0.18	2.79±0.10	2.69±0.08	3.11±0.20 ^c

^a Significantly different from the corresponding the other groups ($p<0.05$). ^b Significantly different from the corresponding S20 ($p<0.05$). ^c Significantly different from the corresponding C20 ($p<0.05$).

Table 7. Femur weight and calcium, phosphorus and magnesium content.

(Mean \pm SE; $n=6$)

	C 20	C 40	S 20	S 40
Fresh wt. (mg)	520 \pm 9	529 \pm 14	552 \pm 15	559 \pm 15
Dry fat-free wt. (mg)	352 \pm 8	352 \pm 8	360 \pm 9	364 \pm 10
Wt. mg/100 g body wt.	145 \pm 4	145 \pm 4	148 \pm 4	146 \pm 4
Femur ash wt. (mg)	253 \pm 6	252 \pm 6	269 \pm 12	262 \pm 9
Femur ash %*	71.7 \pm 1.0	71.6 \pm 0.9	74.5 \pm 1.7	72.1 \pm 1.1
Ca	total (mg)	83.1 \pm 2.3	83.3 \pm 1.9	86.3 \pm 2.4
	mg/fat-free 1 g	236.0 \pm 2.2	236.4 \pm 1.4	239.8 \pm 1.9
P	total (mg)	38.2 \pm 0.7	37.5 \pm 0.8	37.6 \pm 0.7
	mg/fat-free 1 g	107.0 \pm 1.2	106.4 \pm 1.5	104.7 \pm 2.3
Mg	total (mg)	1.85 \pm 0.03	1.83 \pm 0.03	1.88 \pm 0.04
	mg/fat-free 1 g	5.26 \pm 0.03	5.21 \pm 0.05	5.22 \pm 0.02
Ca/P	2.21 \pm 0.02	2.22 \pm 0.03	2.30 \pm 0.05	2.20 \pm 0.03

* Femur ash weight (mg) per dry fat-free femur weight (mg) \times 100.

Table 8. Kidney weight and calcium, phosphorus and magnesium content.

(Mean \pm SE; $n=6$)

	C 20	C 40	S 20	S 40
Kidney wt. (mg)	730 \pm 13	886 \pm 18 ^a	762 \pm 29	884 \pm 27 ^a
Wt. mg/100 g body wt.	301 \pm 8	364 \pm 6 ^a	313 \pm 11	371 \pm 18 ^a
Ca	whole (mg)	0.11 \pm 0.01 ^b	0.12 \pm 0.01 ^b	0.13 \pm 0.01
	mg/tissue 1 g	0.16 \pm 0.01	0.13 \pm 0.01 ^b	0.17 \pm 0.02
P	whole (mg)	2.03 \pm 0.02	2.34 \pm 0.04 ^a	2.09 \pm 0.07
	mg/tissue 1 g	2.79 \pm 0.05	2.65 \pm 0.03 ^c	2.74 \pm 0.05
Mg	Whole (mg)	0.17 \pm 0.00	0.18 \pm 0.00 ^c	0.18 \pm 0.00 ^b
	mg tissue 1 g	0.23 \pm 0.01	0.21 \pm 0.01 ^a	0.23 \pm 0.01

^a Significantly different from the corresponding C20 and S20 ($p<0.05$). ^b Significantly different from the corresponding S40 ($p<0.05$). ^c Significantly different from the corresponding C20 ($p<0.05$).^d Significantly different from the corresponding the other groups ($p<0.05$).

的関連性を知るために血清中 PTH を測定し、その結果を Table 6 に示した。Ca の尿中排泄量が最高値を示す C40 の血清中 PTH 量は 2.79 ngEq/ml を示した。S40 は 3.11 nEq/ml の最高値を示し C20 との間に有意差が認められた。

考 察

Ca 出納におよぼすタンパク質の影響は種々¹¹⁾¹²⁾ 報告されているが本実験で著者らはタンパク質の質と量の影響を5カ月齢の経産ラットを用いて 16 週間調べた。

Ca 出納についてみると、Ca 吸収率は加齢とともに低下が認められた。このことは Nordin¹²⁾ の結果においてもよく知られていることである。

尿中への Ca 排泄についてみると高タンパク質食摂取

のうち C40 のみに Ca の高排泄が認められ、S40 は Ca の排泄増加を示さなかった。このように C40 にみられる高い Ca の尿中排泄率は同じ飼料組成による発育期のラットを用いた著者らの実験⁷⁾や北野¹³⁾、Calvo¹⁴⁾ らの報告と同じであった。また S40 の示す結果は著者らの行った発育期のラットを用いた実験⁷⁾にもみられた現象であり、高タンパク質食摂取においてはそのタンパク質の質的違いによって尿への Ca 排泄の様相が異なることを意味している。

この結果は Ca の尿中排泄増加をもたらすとされる腎臓での Ca の再吸収能の低下が、摂取タンパク質の量のみでなく質的違いによって生ずることを示している。

Zemel¹⁵⁾ らはヒトに含硫アミノ酸を添加した低タンパク質食を与えたとき、Ca の尿中排泄量が増加したと報

告しており、また Whiting¹⁸⁾ らは高タンパク質食を与えた実験のなかで Ca とともに硫酸根の尿中排泄量が増加したことを報告している。このことから飼料中含硫アミノ酸が腎臓での Ca の再吸収を妨げる要因の一つとしてあげられる。

今回の実験においてはカゼインおよび分離大豆タンパク質食群とも、制限アミノ酸であるメチオニンを同量添加している。高タンパク質食の C40 と S40 の尿中 Ca 排泄量を比較すると C40 に対して S40 には増加が認められなかった。カゼインと分離大豆タンパク質のアミノ酸含有量の違いはメチオニンにあり、メチオニンが Ca の尿中排泄に大きく関与しているとも考えられる。

一方、Ca の尿中排泄量を加齢との関係からみると各群とも 6, 11 および 16 週目の各出納期間の間では有意の差は認められなかった。C40 の尿中排泄量は加齢にかかわらず高値のまま持続することが特徴的であった。このことは高タンパク質食を長期間にわたって摂取すると尿中排泄量が増加し、減少することなく高排泄が維持されるという Johnson⁴⁾ の報告と一致する。

Ca 体内保留率は加齢に伴い各群とも低下する傾向にあった。しかし尿中 Ca 排泄量が高値を示した C40 であっても飼育 16 週間の間では Ca 出納は負を示さなかった。

P の吸収は飼料タンパク質量や Ca, P 量の影響を受け、鈴木¹⁷⁾ らはタンパク質量よりも Ca 量の影響が強いとし、北野¹⁸⁾ らは 40% カゼイン食投与で P 吸収は高値を示したとしている。飼料中の Ca, P 量を標準量とした今回の実験での P 吸収は C40 が最高値を示し、P 吸収がタンパク質の量、質両方の影響を受けることが明らかとなった。

P の尿中排泄率は C40 が有意に高値を示す結果であり、加齢の及ぼす影響については各群とも低下する傾向にあった。このことは発育期のラット⁷⁾ の尿中 P 排泄率が加齢につれて増加することと大きく異なる結果であった。

P の体内保留率は、各群とも P の尿中排泄率が高い影響を受け、発育期のラットに比べ低値を示した。この傾向は C40 に強くみられることから経産ラットの P 利用に対する高タンパク質食の影響は発育期のラット以上に大きいと考えられる。

ところで生体における Ca の恒常性維持には骨の役割が大きいことから、高タンパク質食摂取時の尿中 Ca 排泄量の増加がもたらす影響を大腿骨について調べた。まず Ca の尿中排泄量が最高値を示す C40 の Ca 量についてみると総量および脱脂大腿骨 1g 当りの量とも他の群との間に差は認められなかった。Ca の尿中排泄量増加が大腿骨の Ca 量に影響を与えなかった理由の一つ

は、尿中に排出される Ca 量とそれを補う骨全体に存在する Ca 量の差が大きいためと考えられる。

腎臓重量については 40% タンパク質食群の腎臓重量が 20% タンパク質食群に比べて有意に重かった。このような腎臓の肥大化は、飼料中タンパク質含有量を 35% とした Whiting³⁾ らの実験でも確認されている。発育期のラットを用いた著者らの実験でも同様であった。また Rugiu¹⁹⁾ らは高タンパク質摂取に伴う腎臓重量の増加が糸球体濾過能を高め、腎臓機能の負担を増大しているためとしている。また体重 100g 当りに換算した腎臓重量においても総重量と同様に 40% タンパク質食群が 20% タンパク質食群に対して有意に重かった。腎臓中の Ca 量については C20, C40 が低値を示し、なかでも C40 は腎臓 1g 当りの Ca 量において S40 と有意の差が認められる最低値を示した。

腎臓中の Ca 量は摂取するタンパク質や Ca および P 量に関係し北野¹⁸⁾ らは高タンパク質、高 P 食で、鈴木²⁰⁾ らは高 P および P の形態によっては腎臓への Ca 蓄積が高められたとしている。C40 の腎臓中 Ca 量が S40 に対して有意に低値を示すことについてはこれらの理由のほかには尿中への Ca 排泄の増加も大きく関係しているのではないかと考えられる。

大腿骨中の P, Mg 量はその総量や脱脂骨 1g 当りの量とも各群間に差を認めなかった。このような結果は Ca と同じ傾向にあり発育期のラットでもみられたことであった⁷⁾。

タンパク質の質と量を変えただけの飼料ではなく、よほど極端な飼料組成あるいは長期飼育をしないかぎり大腿骨のミネラル量に差を見いだすことは無理なのかもしれない。このことは Mg が負出納を示した発育期のラットの C40 でも、大腿骨中の Mg 量に差を認めなかった⁷⁾ ことからもうかがえる。

以上の結果からみると、今回の実験条件のもとでは高タンパク質食による経産ラットの骨形成障害および形成された骨からの過剰のミネラルの動員はおこらなかったと判断できる。

一方、高タンパク質摂取に伴う尿中 Ca 排泄量の増加と血清 PTH 量との関係をみると、40% タンパク質食群の PTH が 20% タンパク質食群に対して高値を示す傾向にあった。

ところで PTH の分泌調節をもたらす主たる因子は血清中の Ca 濃度であり、Ca 濃度の低下が PTH の作用すなわち PTH の標的器官である骨からの Ca 溶出や腎臓での Ca の再吸収能²¹⁾ に影響を及ぼすといわれている。Ca の尿中排泄量が最高値を示す C40 の血中 Ca 濃度は 4 群間において有意の差は認めないものの最低値を示しており、PTH 濃度については最高値を示した。こ

のように尿への排泄増加による Ca 損失を補う PTH の Ca 調節機構は Ca 出納が負に至らぬ、血清 Ca が正常範囲にとどまっている場合でも作用していることを意味している。S40 の PTH 量が C40 より高値である理由については不明であり、今後さらに詳細に検討する必要がある。

要 約

生後5カ月齢のフィッシャー系経産ラットにカゼインまたは分離大豆タンパク質の2種類をタンパク質源とし、その含有量をそれぞれ20%と40%とした飼料、すなわち20%カゼイン食(C20)、40%カゼイン食(C40)、20%分離大豆タンパク質食(S20)、40%分離大豆タンパク質食(S40)を16週間与え、その間6, 11, 16週間目にそれぞれカルシウム(Ca)、リン(P)、マグネシウム(Mg)の出納実験を行った。また、16週目実験終了時における血清、大腿骨、腎臓中のCa, P, Mg量におよぼす飼料タンパク質の影響について調べた。さらにCa尿中排泄量と血清PTH量の関連についても検討した。

結果は以下のとおりであった。

1) C40のCaとPの尿中排泄率はともに他の3群に対してつねに高値を示した。しかし出納は負を示さなかった。またC40のCaの尿中排泄率は加齢にかかわらず高排泄を持続する特徴を示した。

2) C40のCa体内保留率はS40より低く、Ca代謝におよぼすマイナス効果はC40が大きい傾向であった。

3) C40のMgの尿中排泄率および体内保留率は他の群間と有意の差を認めなかった。

4) 大腿骨重量、脱脂骨重量、骨中灰分量および脱脂大腿骨1g当りのCa, P, Mg量、骨中Ca/P比には各群間に差を認めなかった。

5) C40, S40の腎臓はC20, S20より重く、C40の腎臓1g当りに換算したCa量は各群中もっとも低値であった。

6) 40%タンパク質食群の血清PTH量が高値傾向を示すことからCa保持に関する機能の亢進が考えられた。

以上の結果から、タンパク質の過剰摂取はCa代謝にとって危険因子となりうる可能性が推定された。

文 献

- 1) Linkswiler, H.M., Zemel, M.B., Hegsted, M. and Schuette, S.: *Fed. Proc.*, **40**, 2429 (1981)
- 2) Bell, R.R., Engelmann, D.H., Sie, T.L. and Draper, H.H.: *J. Nutr.*, **105**, 475 (1975)
- 3) Whiting, S.J. and Draper, H.H.: *J. Nutr.*, **111**, 178 (1981)
- 4) Johnson, N.E., Aleantara, E.N. and Linkswiler, H.M.: *J. Nutr.*, **100**, 1425 (1970)
- 5) Schuette, S.A., Zemel, M.B. and Linkswiler, H.M.: *J. Nutr.*, **110**, 305 (1980)
- 6) Spencer, H., Kramer, L., DeBartolo, M., Norris, C. and Osis, D.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **37**, 924 (1983)
- 7) 阿左美章治, 平塚静子, 北野隆雄, 江指隆年: 栄養誌, **47**, 103 (1989)
- 8) Marsh, A.G., Sanchez, T.V., Mickelsen, O., Keiser, J. and Mayor, G.: *J. Am. Diet. Assoc.*, **76**, 148 (1980)
- 9) 石原静盛, 辻岡設子, 元木純子, 本田 稔, 友延正弘, 金尾啓右, 伏見尚子, 岸野文一郎, 西川光夫, 板谷宏彬, 森井浩世: ホルモンと臨床, **32**, 1009 (1984)
- 10) 吉岡秀夫(編): 統計解析手順集 18 (1966), 日科技連(東京)
- 11) Licata, A.A., Bou, E., Bartter, C.F. and West, F.: *J. Gerontol.*, **36**, 14 (1981)
- 12) Nordin, B.H.C.: Calcium Phosphate and Magnesium Metabolism (Nordin, B.H.C., ed.), **36** (1976), Churchill Livingstone (London and New York)
- 13) 北野隆雄, 阿左美章治, 江指隆年: 第37回日本栄養・食糧学会総会講演要旨集, **45** (1983)
- 14) Calvo, M.S., Bell, R.R. and Forbes, R.M.: *J. Nutr.*, **112**, 1401 (1982)
- 15) Zemel, M.B., Schuette, S.A., Hegsted, M. and Linkswiler, H.M.: *J. Nutr.*, **111**, 545 (1981)
- 16) Whiting, S.J. and Draper, H.H.: *J. Nutr.*, **111**, 1721 (1981)
- 17) 鈴木和春, 五島孜郎: 栄養誌, **34**, 57 (1976)
- 18) 北野隆雄, 二塚 信, 大塚陽一郎, 江指隆年, 平塚静子, 阿左美章治: 栄食誌, **42**, 235 (1989)
- 19) Rugiu, C., Oldrizzi, L. and Maschio, G.: *Kidney Int.*, **32**, S-29 (1987)
- 20) 鈴木和春, 上原万里子, 遠藤幸江, 五島孜郎: マグネシウム, **6**, 127 (1987)
- 21) Allen, L.H., Bartlett, R.S. and Block, G.D.: *J. Nutr.*, **109**, 1345 (1979)

(1989年10月13日受理)